

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 21 日現在

機関番号：87204

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461098

研究課題名(和文) 過剰な食塩摂取による脳梗塞病態増悪の機序に関する実験的研究

研究課題名(英文) Excess Salt Increases Infarct Size Produced by Photothrombotic Distal Middle Cerebral Artery Occlusion in Spontaneously Hypertensive Rats

研究代表者

八尾 博史 (Yao, Hiroshi)

独立行政法人国立病院機構肥前精神医療センター(臨床研究部)・その他部局等・その他

研究者番号：20265010

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：食塩負荷により中大脳動脈閉塞による脳梗塞容積は、血圧変動を伴わずに増大した ($112 \pm 27 \text{ mm}^3$ vs. $77 \pm 12 \text{ mm}^3$)。

中大脳動脈閉塞後の脳血流は、食塩負荷群において対照群に比し、有意に減少した。血液脳関門破綻の指標としての脳組織アルブミンとヘモグロビン含量は食塩負荷により増悪はみとめられなかった。以上より、食塩負荷による脳梗塞増大の機序は、過剰な食塩による中大脳動脈閉塞後の側副血行路の機能障害 であると考えられた。正常血圧ラットでは食塩負荷により有意な脳梗塞増大はなかったため、食塩負荷は高血圧と合わさって増悪作用を顕在化させることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Cerebral circulation is known to be vulnerable to high salt loading. After 14 days of salt loading (0.9% saline), spontaneously hypertensive rats (SHR) and normotensive Wistar-Kyoto rats (WKY) were subjected to photothrombotic middle cerebral artery occlusion (MCAO). After MCAO, regional cerebral blood flow (CBF), determined with laser-Doppler flowmetry, was more steeply decreased in the salt-loaded group than in the control group. In SHR/1zm, infarct volume in the salt-loaded group was $112 \pm 27 \text{ mm}^3$, which was significantly larger than $77 \pm 12 \text{ mm}^3$ in the control group ($p=0.002$), while the extents of blood-brain barrier disruption (brain albumin and hemoglobin levels) were not affected by excess salt. In WKY, salt loading did not significantly increase infarct size. These results show the detrimental effects of salt loading on intra-ischemic CBF and subsequent brain infarction produced by phototrthombotic MCAO in hypertensive rats.

研究分野：脳血管障害

キーワード：過剰な食塩摂取 高血圧 脳梗塞 局所脳虚血モデル 高血圧自然発症ラット 血液脳関門 脳血流

1. 研究開始当初の背景

食塩の過剰摂取が血圧を上昇させ、脳血管障害の増悪因子となることがメタアナリシスなどにより明らかにされていたが、局所脳虚血（脳梗塞）モデルにおいて過剰な食塩摂取と脳梗塞サイズの関係について検討したものはなかった。食塩は正常血圧者においても悪影響を及ぼすが、過剰な食塩摂取により脳梗塞病態が増悪する理由として、血圧上昇とは独立した機序が存在するかという点についても不明であった。

2. 研究の目的

高血圧自然発症ラット (spontaneously hypertensive rats [SHR]) の局所脳虚血モデル[引用文献 1]を用いて、過剰な食塩摂取により脳梗塞サイズが増大するのか、また増大するとすればその機序はどういうものであるのかについて検討した。

過剰な食塩の有害作用の機序を解明するため、(1) 血圧値をはじめとする生理学的諸変量や電解質に及ぼす食塩摂取の影響について検討し、(2) 中大脳動脈閉塞後の脳血流 (=側副血行路からの血流) を測定し、(3) 中大脳動脈閉塞後の血液脳関門の状態 (vasogenic edema) についても評価した。また、中大脳動脈閉塞を行わない SHR を用いて脱血による血圧 (脳灌流圧) 低下による脳血流自動調節能に対する食塩負荷の影響についても検討した。

3. 研究の方法

3ヶ月齢の雄性 SHR/Izm (n=43) と正常血圧ラット (WKY/Izm) (n=11) を用い、0.9% 食塩水負荷 14 日後に中大脳動脈を閉塞した。対照群としては水道水を通常通り摂取させた。飲水量は両群で適宜定量化した。

実験 1 - 脳血流は laser-Doppler flowmetry により測定した。脳梗塞容積は、中大脳動脈閉塞から 48 時間後に 1% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) 染色により定量化した。

実験 2 - 脳梗塞に伴う血液脳関門破綻の指標として脳組織 (虚血中心部、虚血辺縁部、対側非虚血領域) のアルブミンとヘ

モグロビン含量を surface enhanced laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry (SELDI-TOF-MS) により測定した。

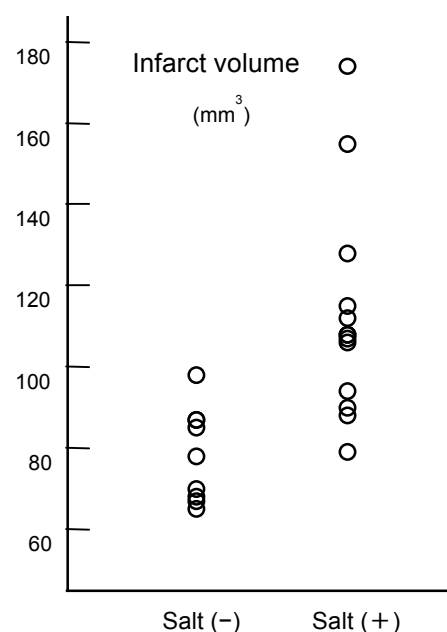
実験 3 - 正常血圧ラット (WKY/Izm) において 0.9% 食塩水負荷 14 日後に中大脳動脈を閉塞し、脳梗塞容積を測定した。

実験 4 - 食塩負荷群と対照群において大腿動脈からの脱血により血圧を 10 mmHg 毎低下させ、脳血流を各血圧値で laser-Doppler flowmetry により測定し、脳血流自動調節能の下限域について検討した。脳血流自動調節能の下限域の定義は安静時脳血流から 10% もしくは 20% の脳血流減少した血圧値とした。

4. 研究成果

SHR/Izm の安静時平均動脈血圧は、食塩負荷群で 137 ± 15 mmHg、対照群で 141 ± 7 mmHg と差はなかった。血圧以外の生理学的諸変量や電解質 (Na, K) にも両群間で差はなかった。

実験 1 - 中大脳動脈閉塞後の脳血流 (中大脳動脈閉塞 30 分後の値のみ示す) は、食塩負荷群で対照群と比し有意により減少した ($23 \pm 6\%$ vs. $42 \pm 11\%$)。脳梗塞容積は、食塩負荷群で 112 ± 27 mm³、対照群で 77 ± 12 mm³ と食塩負荷により増大した ($p=0.002$)。



実験 2 - 脳アルブミン (M.W. 65.9 kDa) 含量は、虚血中心部と虚血辺縁部のいずれでも対側非虚血領域の 12 から 20 倍まで増加した。ヘモグロビン α と β は虚血中心部において軽度の増加をみとめた。アルブミンとヘモグロビンの増加の程度には食塩負荷群と対照群の間に差はなかった。

実験 3 - WKY/Izm では、食塩負荷による脳梗塞容積の有意な増大はなかった。

実験 4 - 脳血流自動調節能の下限域は食塩負荷により変化しなかった。

結論として、過剰な食塩負荷により脳梗塞容積は血圧上昇を伴わず増大した。局所脳虚血では、血液脳関門の破綻が食塩負荷により増悪することはなかった。正常血圧ラットでは脳梗塞容積の有意な増大はなかったことから、過剰な食塩は高血圧との相乗効果により脳梗塞を増大させると考えられた。

〈引用文献〉

1. Yao H, Nabika T. Standards and pitfalls of focal ischemia models in spontaneously hypertensive rats: With a systematic review of recent articles. *J Transl Med.* 2012;**10**:139.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 2 件)

1. Yao H, Ferdaus MZ, Zahid HM, Ohara H, Nakahara T, Nabika T. Focal Ischemic Injury with Complex Middle Cerebral Artery in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats with Loss-Of-Function in NADPH Oxidases. *PLoS One* 2015;**10**:e0138551. doi:10.1371/journal.pone.0138551.

2. Yao H, Nabika T. Excess salt increases infarct size produced by photothrombotic distal middle cerebral artery occlusion in spontaneously hypertensive rats. *PLoS One* 2014;**9**:e97109. doi: 10.1371/journal.pone.0097109.

〔学会発表〕 (計 4 件)

1. Yao H, Ferdaus MZ, Zahid HM, Ohara H, Nakahara T, Matsumoto T, Nabika T. Focal ischemic injury with complex middle cerebral artery in stroke-prone spontaneously hypertensive rats with loss-of-function in NADPH oxidases. Brain2015, Vancouver, Canada, June 27-30, 2015

2. 八尾博史、並河徹. Nox サブユニット P22PHOX を欠損した SHRSP における中大脳動脈閉塞による局所脳虚血障害. 第 40 回日本脳卒中学会総会. 広島市、2015 年 3 月 26-29 日

3. Yao H, Nabika T. Excess Salt Increases Infarct Size Produced by Photothrombotic Middle Cerebral Artery Occlusion Without Increasing Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats. International Stroke Conference, San Diego, U.S.A., Feb. 12, 2014

4. 八尾博史、並河徹. 過剰な食塩負荷は血圧上昇を伴わずに高血圧自然発症ラットの中大脳動脈閉塞による脳梗塞を増大させる. 第 36 回日本高血圧学会総会. 大阪市、2013 年 10 月 24-26 日

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

八尾 博史 (YAO Hiroshi)
国立病院機構 肥前精神医療センター
臨床研究部 生化学研究室長
研究者番号：20265010

(2) 研究分担者

並河 徹 (NABIKA Toru)
島根大学 医学部 病態病理学 教授
研究者番号：50180534

(3) 連携研究者

()

研究者番号：